

# 人工老化对春小麦种子萌发及 根尖超微结构的影响

刘旭欢<sup>1</sup>, 贾永红<sup>2</sup>, 阿里别里根·哈孜太<sup>1</sup>, 卓方方<sup>1</sup>, 石书兵<sup>1\*</sup>

(1 新疆农业大学 农学院, 乌鲁木齐 830052; 2 新疆农业科学院 奇台麦类试验站, 新疆奇台 831800)

**摘要:** 选取‘新春6号’小麦种子为材料, 进行不同时间的高温高湿人工加速老化处理, 考察发芽率、幼苗根长、幼苗鲜重、幼苗干重等指标, 并用扫描电镜和透射电镜观察其种子根尖表皮形态及细胞结构变化, 明确不同老化处理对春小麦种子萌发及根尖细胞超微结构的影响。结果表明, 随着种子劣变程度加深(老化处理时间的延长), 春小麦种子发芽率、发芽势、发芽指数、幼苗根长、鲜重、干重等相关活力指标急剧下降, 而平均发芽时间持续增加, 且以老化处理4 d为种子活力下降的转折点。种子萌发72 h后, 胚根尖表皮结构的扫描电镜观察发现, 随着老化程度加深, 胚根尖表皮皱缩逐渐加深、紧凑, 最终致使表皮破裂, 内部细胞裸露; 透射电镜观察则显示, 老化处理越久, 根尖细胞中细胞器溶解程度越明显, 最终导致整个细胞形成空腔。可见, 根尖表皮形态、内部细胞结构上的改变可能是引起种子逐步丧失活力的原因。

**关键词:** 春小麦; 人工老化; 种子活力; 根尖超微结构

**中图分类号:** Q248; Q255      **文献标志码:** A

## Effect of Artificial Aging on Seed Germination and Root Ultrastructure of Spring Wheat

LIU Xuhuan<sup>1</sup>, JIA Yonghong<sup>2</sup>, Alibieliigen · hazitai<sup>1</sup>, ZHUO Fangfang<sup>1</sup>, SHI Shubing<sup>1\*</sup>

(1 College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China; 2 Qitai County Wheat Experiment Station, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Qitai, Xingjiang 831800, China)

**Abstract:** The purpose of the study was to determine the difference of aging time on germination and root tip cell ultrastructure of wheat cultivar, ‘Xinchun 6’. Germination rate, seedling root length, seedling fresh weight, seedling dry weight, and the change in root tip skin form, cellular structure were included in this test. It was, then, easy to guess that germination rate, germination potential, germination index, seedling root length, fresh weight and dry weight were decreased sharply while MGT increase as the extension of aging time. And aging 4 d was the turning point of seed vigor drops by scanning seedling root of germination 72 h, we can find that along with the aging time, the root epidermal cells shrivel deepened/compacted, eventually. It can be caused shin burst, inside cells bared. Under the transmission electron microscopy, the degree of organelles dissolved obvious gradually, and the whole cell formation of cavity eventually. We can visibly saw that the seed gradually lost vitality may be caused by root epidermal morphology, internal changes in the cellular structure.

**Key words:** spring wheat; artificial aging; seed vigor; root tip ultrastructure

收稿日期: 2014-10-16; 修改稿收到日期: 2015-02-06

基金项目: 农业部公益性行业农业科研专项(201303002); 新疆自治区研究生创新项目(XJGRI2013111)

作者简介: 刘旭欢(1988-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事作物栽培与耕作研究。E-mail: 472543919@qq.com

\* 通信作者: 石书兵, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事小麦高产栽培研究。E-mail: shbshi@sina.com

种子活力是衡量种子质量的重要指标<sup>[1-2]</sup>,通常在种子发育的生理成熟期达到高峰。种子的成熟同时也标志着活力开始下降,这种下降是不可逆转的劣变过程。国内外学者通过种子老化及劣变机理的研究<sup>[3]</sup>发现,可用人工加速老化法模拟种子的自然老化和劣变过程<sup>[4-5]</sup>。目前,关于种子老化及其相关方面的研究是国内外研究的热点之一,并在大豆<sup>[6]</sup>、小麦<sup>[7]</sup>、玉米<sup>[8-9]</sup>和蔬菜<sup>[10]</sup>种子老化研究中发现,种子发芽率、发芽指数及活力指数等发芽指标呈现明显的下降趋势,在萌发过程中种子及幼苗对不良环境的适应力减弱,对不良贮藏条件的忍受力下降,表现出对辐射处理高度敏感以及种苗生长缓慢等现象,与此同时伴随着种子活力的下降,种子细胞膜透性发生改变,渗透增加;种子在老化时膜功能受损,通常反映在老化的整粒种子膜透性增加<sup>[11]</sup>。迄今关于小麦种子活力遗传力等方面的研究较多<sup>[12-13]</sup>,而将扫描电镜、透射电镜技术与化学方法结合在一起进行植物结构观察,揭示该种植物最基本的生命活动规律的研究逐渐多起来<sup>[14-16]</sup>。种子具有的功能与其细胞的结构息息相关,致使种子活力下降的根本原因是种子细胞结构的变化<sup>[15]</sup>。当前,有关高温高湿老化胁迫对农作物、蔬菜种子各项生化指标研究的文献较多<sup>[6-10]</sup>,但高温高湿老化胁迫对其根系细胞超微结构的研究报道甚少,在新疆春小麦根系上研究超微结构的文献则更加稀少。因此,本试验考察了不同老化处理的小麦种子活力及其细胞超微结构,探讨其间的相关性,为小麦留种、贮藏、测定种子活力等工作提供理论依据和参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料培养及处理

选用新疆种植面积较大的‘新春6号’小麦品种为供试材料,供试样品均为2014年7月收获种子。选取含水量在12%~13%范围内的参试材料种子各5份,参照宋松泉等<sup>[17]</sup>的方法,将参试种子放到温度41℃、相对湿度100%的密闭容器中进行人工加速老化处理,处理时间分别为2、4、6、8d,并以未经老化处理的材料作为对照(CK),待种子含水量降至原状态后再进行各项指标的测定。

### 1.2 测定项目及方法

**1.2.1 种子萌发指标** 按照国际种子检验规程<sup>[18]</sup>进行种子室内发芽试验,重复4次,第4天开始记录正常发芽种子数,第7天记录正常发芽种子总数。然后根据以下公式计算相关指标。

发芽率(%)=(第7天发芽种子数/检测种子总数)×100%

发芽势(%)=(第4天发芽种子数/检测种子总数)×100%

发芽指数(GI)=∑(t时间内发芽数/相应发芽日数)

活力指数=发芽率×第7天幼苗长度

平均发芽时间(MGT)=∑Ti×Ni/∑Ni

式中,Ni为在时间Ti内新发芽的种子数;MGT为判断种子发芽速度和整齐度的指标,MGT越小,发芽速度及整齐度越高。高发芽率及小的MGT是种子活力高的重要指标。

**1.2.2 幼苗鲜重和干重** 先把各重复组中生长满7d长势均匀一致的20株幼苗清洗干净,用滤纸把水分吸干,用天平称取每个重复幼苗鲜重(mg),算其单株平均值;再将幼苗放入烘箱杀青并烘干至恒重,称量其干重(mg),计算单株平均值。

**1.2.3 透射电镜观察** 将萌发72h春小麦胚根尖分别用2.5%戊二醛、1%锇酸做前、后固定,随后用树脂618包埋,再将包埋好的样品用型号为LKB-V超薄切片机切成厚度为50nm薄片,最后将薄片分别用醋酸双氧铀、柠檬酸铅染色,并用HitachiH-600A型透射电镜观察。

**1.2.4 扫描电镜观察** 取萌发72h春小麦种胚的胚根尖部,用2.5%戊二醛溶液固定1h后,经0.1mol/L磷酸盐缓冲溶液清洗3~5次,用1%~2%锇酸固定1~1.5h,依次用30%、50%、70%、80%、90%、100%乙醇进行梯度脱水后,再分别经过1:1和1:4的无水乙醇;丙酮溶液及纯丙酮置换后,将样品放置于日立IB-5离子镀膜仪中镀膜,上镜扫描电镜(日立S570)观察。

### 1.3 数据处理

试验数据采用Excel 2010进行整理,采用DPS 6.5软件进行有关分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 人工老化处理对春小麦种子萌发特性的影响

表1显示,随着人工老化处理时间的延长,春小麦种子发芽率、发芽势、发芽指数均呈下降趋势,而平均发芽时间(MGT)表现出持续增加的趋势,且在各老化处理间均存在极显著差异( $P < 0.01$ )。其中,种子发芽率、发芽势和发芽指数在老化处理4d后开始大幅下降,MGT开始大幅延长,如老化处理8d种子的发芽指数比对照组(CK)降低了94.37%,

表 1 不同老化处理下春小麦种子萌发和幼苗农艺性状的表现

Table 1 The influence of different aging treatments on seed germination and seedling agronomic traits

性状 Trait	老化处理时间 Aging treatment time/d				
	0(CK)	2	4	6	8
发芽率 Germination rate/%	99.67aA	94.56bB	75.00cC	23.33dD	11.01eE
发芽势 Germination potential/%	98.33aA	92.00bB	75.00cC	23.33dD	10.71eE
发芽指数 Germination index	20.32aA	18.46bB	14.13cC	4.36dD	1.07eE
平均发芽时间 Mean germination time/d	2.00aA	2.78bB	4.52cC	6.43dD	7.85eE
幼苗根长度 Seedling root length/cm	9.58aA	7.65bB	5.35cC	4.3dD	3.54eE
幼苗鲜重 Seedling fresh weight/mg	96.10aA	90.95bB	79.23cC	70.63dD	61.21eE
幼苗干重 Seedling dry weight/mg	15.18aA	14.13bB	11.88cC	10.67dD	8.82eE
种子活力指数 seed vigor index	17.19aA	14.51bB	11.00cC	3.09dD	1.03eE

注:同行不同小写和大写字母分别表示处理间在 0.05 和 0.01 水平存在显著性差异。

Note: The different normal and capital letters mean significant difference among treatments at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

此时的 MGT 则是 CK 的 3.92 倍。同时,种子萌发后的幼苗根长、鲜重、干重也随人工老化时间延长表现出逐渐降低的趋势,且老化处理间及其与 CK 间均存在极显著差异,同样在老化处理 4 d 开始大幅下降,如老化处理 8 d 种子幼苗的根长、鲜重、干重分别比 CK 极显著降低 34.99%、36.31%、41.90%,可能与籽粒内内含物劣变程度深浅相关。另外,不同老化处理间种子活力降低幅度较明显,对照组种子活力指数(17.19)分别比老化处理 2 d、4 d、6 d、8 d 的种子高出 15.58%、35.98%、82.00%、94.03%。可见,本实验条件下人工老化处理严重抑制了春小麦种子的萌发和幼苗生长,而且老化处理 4 d 是种子活力下降的转折点。

## 2.2 老化处理对春小麦种子胚根尖表皮形态和细胞超微结构的影响

### 2.2.1 胚根表皮形态

由图版 I, 1~10 可以看出,萌发 72 h 后春小麦胚根表皮形态结构在不同处理间各异。其中,未经老化处理胚根表皮发生轻微皱缩,表皮较为光滑,凹陷处可以看到根毛覆盖在表面上(图版 I, 1、2);加速老化处理 2 d 的幼根仅表现为胚根表皮紧密程度较未老化种子表皮紧致,表面凹凸起伏,几乎看不到根毛覆盖,而此时的萌发指标下降幅度不大,说明短暂劣变处理对种子伤害较轻,种子活力可得到一定程度恢复(图版 I, 3、4);老化 4 d 种子的幼根表皮皱缩程度进一步加深,且表皮逐渐开始突起,此时种子活力可恢复程度明显低于老化 2 d 处理,说明随着劣变时间的延长,种子活力下降较明显(图版 I, 5、6);至老化 6 d 时部分种子已经开始丧失活力,幼根外部形态表现为胚根尖表皮逐渐开始破裂,内部细胞逐渐开始裸露(图版 I, 7、8);当老化 8 d 时绝大部分种子已完全丧失活

力,此时的种子对农业生产已失去高产、优质等生产意义,此时幼根外部形态表现为畸形,胚根短而粗,表皮发黑且破裂严重,电镜下可以发现胚根皮层互相分离,内部结构大面积裸露(图版 I, 9、10)。

### 2.2.2 胚根尖细胞结构

图版 I, 11~16 显示,各老化处理种子根尖细胞中线粒体结构从正常→膨胀→消融的变化现象最为突出,其次是细胞内电子致密物由少至多,质壁分离现象变化较为明显。其中,未加速老化处理种子吸胀萌发后的细胞内结构较完整,细胞核、线粒体、液泡等发育正常且分布均匀(图版 I, 11);在老化处理 2 d 后萌发的胚根细胞内,除了线粒体略微肿胀,隐约可见线粒体处于分裂中期,而其余细胞器结构均未出现显著变化(图版 I, 12),再比对 CK 组与老化 2 d 的种子活力指数、发芽率等指标也可以看出,此时发芽力下降可能是由于线粒体膨胀变化即酸性酯酶活性大量增加引起的,但降低幅度不大;对于老化 4 d 的胚根细胞而言,细胞内结构发生变化较老化 2 d 处理明显,此时细胞质膜分离,细胞核质分散,细胞内残存一定量的电子致密物质,细胞器出现溶解迹象(图版 I, 13);老化 6 d 的胚根尖细胞内,细胞器溶解现象大幅提升(图版 I, 14、15);老化 8 d 的种子胚根尖部分细胞已形成空腔(图版 I, 16)。

## 3 讨论

一般认为,种子在老化过程中,其内部发生了一系列生理生化变化,它的各功能、结构受到损伤,且老化程度越高,受损程度也就越大,最终导致种子质量下降,如活力、生活力、贮藏能力、田间健植率和植株生产性能等下降,甚至丧失活力<sup>[19]</sup>。本实验条件下人工老化处理严重抑制了春小麦种子的萌发和幼

苗生长,其种子萌发指标和幼苗生长性状的变化规律与前人研究结果一致。

本研究的发芽试验结果表明,老化 4 d 种子的各项发芽指标开始加剧变化,成为种子萌发能力的转折点。根系是吸收养分和水分的器官,同时也是物质同化、转换的重要器官,其结构和活力与植物的耐性息息相关。通过电镜对根尖表皮形态、内部细胞结构观察发现,老化 4 d 的根尖表皮开始突起、破损,细胞质壁分离,电子致密物增多,一系列的急剧变化反映出高温高湿老化胁迫下,根系是最早、最直接的受害部位,也印证了发芽试验得出的老化 4 d 是种子萌发能力转折点的结论。细胞器结构是否完整对种子活力高低具有很大的影响,在高温高湿老化胁迫初期,细胞膜受损程度较低,能够使得细胞功能得到大致恢复,但是随着胁迫程度的加深,根尖细胞结构进一步遭到不可逆破坏,种子才表现出发芽力降低甚至最终失去发芽能力。

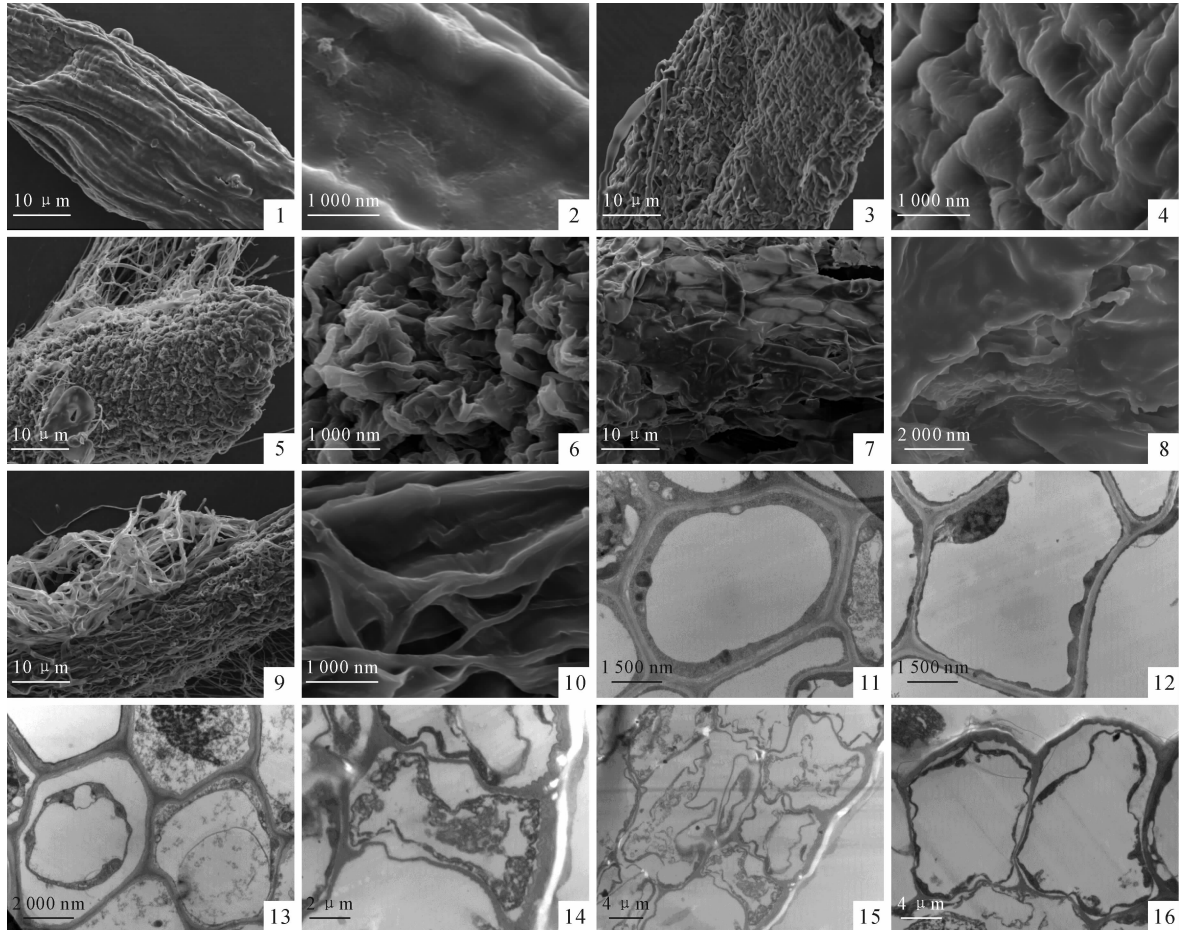
## 4 结 论

作为衡量种子发芽能力、整齐度的发芽率、活力指数、发芽指数、平均发芽时间都会直观地影响田间幼苗苗情。本试验结果表明,‘新春 6 号’春小麦种子随着老化劣变时间的延长,其活力指数、发芽率、幼苗根长、幼苗干鲜重、发芽指数等指标均呈明显降低趋势,且短时间内高温高湿胁迫对种子造成的伤害可以得到部分恢复,但劣变程度越深,种子自我修复的能力越低,对种子造成的伤害越重。通过对萌发 72 h 不同老化处理间胚根形态、细胞结构的观察比较发现,种子逐步丧失活力的过程就是胚根表皮形态、内部细胞器逐渐发生形变、质变的过程。在种子活力逐渐降低的过程中,活力指数的变化幅度明显大于发芽率,与胚根形态、细胞器的变化趋势一致,说明活力指数对种子老化反应更加敏感,因此它可以作为反映种子活力的良好指标。

## 参考文献:

- [1] ABDUL-BAKIJ. Biochemical aspects of seed vigor[J]. *Horst Science*, 1980, **3**(15): 88—90.
- [2] DELL. AQUIL A. Wheat seed ageing and embryo protein degradation[J]. *Seed Science Research*, 1994, **4**(1): 67—68.
- [3] MCDONALD M B. Seed deterioration physiology, repair and assessment[J]. *Seed Science and Technology*, 1999, **27**(1): 172—177.
- [4] POWELL A, MATTHEWS S. Evaluation of controlled deterioration a new vigor test for small seed vegetables[J]. *Seed Science and Technology*, 1981, **9**(11): 633—640.
- [5] POWELL A, MATTHEWS S. Application of the controlled deterioration vigor test to detect seed lots of brussels sprouts with low potential for storage under commercial conditions[J]. *Seed Science and Technology*, 1984, **12**(7): 649—657.
- [6] ZHOU J P(周建萍), QIAO Y X(乔燕祥), MU ZH X(穆志新), et al. Study on vitality index of soybean seed in aging process[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*(山西农业科学), 2007, **35**(3): 33—35(in Chinese).
- [7] TANG J X(汤菊香), LI M J(李明军), LI G SH(李广顺). Studies on the physiological characteristic of wheat in their artificial aging[J]. *Journal of Henan Normal University*(Nat. Sci. Edi.)(河南师范大学学报·自然科学版), 2005, **33**(3): 164—159(in Chinese).
- [8] QU Y F(渠云芳), MA J H(马金虎), HE R P(贺润平), et al. Study on the high temperature ageing influence on germination indexes of seeds of two varieties of maize[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*(中国农学通报), 2006, **22**(2): 156—159(in Chinese).
- [9] ZHAO G W(赵光武), WANG J H(王建华). Seed vigor test of sweet corn (*Zea mays* L. *saccharata* Strut.) and evaluation of its field survival ability[J]. *Plant Physiology Communications*(植物生理学通讯), 2005, **41**(4): 444—447(in Chinese).
- [10] LI Y(李 颜), WANG Q(王 倩). The artificial aging of welsh onion seed and its relation to membrane lipid per oxidation[J]. *Seed*(种子), 2007, **26**(3): 7—30(in Chinese).
- [11] BASAVARAJAPPA B. SHETTY H S. PRANKISH H S. Membrane deterioration and other biochemical changes associated with accelerated aging of maize seeds[J]. *Seed Sci. & Tech.*, 1991, **19**: 279—286.
- [12] PAN J(潘 洁), JIANG D(姜 东), CAO W X(曹卫星), et al. Effects of spikelet and grain positions on grain number, weight and protein content of wheat spike[J]. *Acta Agronomica Sinica*(作物学报), 2005, **31**(4): 431—437(in Chinese).
- [13] WALLEYE F, PENNOCK D, SOLOHUB M, et al. Spring wheat yield and grain protein responses to N fertilizer in topographically defined landscape positions[J]. *Canadian Journal of Soil Science*, 2001, **81**(3): 505—514.
- [14] ZHANG S L(张松林), JIN ZH L(金芝兰). The development of embryo and endosperm in *Setaria italica* beaus[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.*(西北植物学报), 1994, **14**(4): 249—254(in Chinese).
- [15] XI X Y(席湘媛), LENG M(冷 梅), YE B X(叶宝兴). Histochemistry and ultrastructure of aleuronic and subaltern cells of seeds in *croix lacryma-jobi*(grandniece)[J]. *Acta Botanical Yunnanica*(云南植物研究), 1995, **17**(1): 55—59(in Chinese).
- [16] YU F Q(余凤群), FU L X(傅丽霞), LIU H L(刘后利), et al. Ultrastructure of microspore embryogenesis and shape of embryonic in *Brescia napae*[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.*(西北植物学报), 1994, **14**(2): 181—185(in Chinese).

- [17] 宋松泉,程红炎,龙春林,等. 种子生物学研究指南[M]. 北京:科学出版社,2005:92—93.
- [18] 国家技术监督局. 农作物种子检验规程[M]. 北京:中国标准出版社,1995:34—53.
- [19] WANG Y R(王彦荣), LIU Y L(刘友良), SHEN Y X(沈益新). A Review of the advances in study on physiology of seed deterioration [J]. *Acta Argrestia Sinica* (草地学报), 2001, 9(3):159—164(in Chinese).



图版 I 不同老化处理下春小麦种子胚根微形态和根尖细胞超微结构

1~10. 春小麦种子胚根表面微形态观察:1,2. 未老化处理对照,显示表皮细胞紧密整齐,×200,×2 500;3,4. 人工老化 2 d,×200,×2 500;5,6. 人工老化 4 d,×200,×2 500;7,8. 人工老化 6 d,×200,×2 500;9,10. 人工老化 8 d,显示表皮细胞成层状脱落,皮层裸露,×200,×2 500. 11~16. 春小麦根尖细胞超微结构:11. 未老化,×10 000;12. 人工老化 2 d,×8 000;13. 人工老化 4 d,×8 000;14,15. 人工老化 6 d,×6 000,×2 500;16. 人工老化 8 d,×3 000.

**Plate I** Radicle microstructure and ultrastructure of root tip cells of spring wheat with different accelerated aging treatments

Fig. 1—10. Radicle microstructure of spring wheat seeds; Fig. 1, 2. No-aging, showing epidermal cell of compact and in order, ×200, ×2 500; Fig. 3, 4. Accelerated aging 2 days, ×200, ×2 500; Fig. 5, 6. Accelerated aging 4 days, ×200, ×2 500; Fig. 7, 8. Accelerated aging 6 days, ×200, ×2 500; Fig. 9, 10. Accelerated aging 8 days, showing epidermis dropping piece by piece and cortical cells exposed, ×200, ×2 500. Fig. 11—16. Ultrastructure of root tip cells of spring wheat; Fig. 11. No aging, ×10 000; Fig. 12. Accelerated aging 2 days, ×8 000; Fig. 13. Accelerated aging 4 days, ×8 000; Fig. 14, 15. Accelerated aging 6 days, ×6 000, ×2 500; Fig. 16. Accelerated aging 8 days, ×3 000.

(编辑:裴阿卫)